# 黄褐毛忍冬生药学鉴定研究

蒋向辉[1,2*]，肖龙骞[1, 2]，杨永平[3]

（1. 怀化学院生物与食品工程学院，湖南 怀化 418008；2. 怀化学院民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室，湖南 怀化 418008；3. 贵州奥特药业有限公司，贵州 凯里 556011)

**摘要**：黄褐毛忍冬具有消炎、抗菌、免疫调节等多种功效，但容易与忍冬属其他物种混淆，通过生药学研究将为黄褐毛忍冬的鉴定工作和药材标准的制定提供科学依据。该文采用植物学鉴定、显微镜观察、薄层色谱鉴定和分子鉴定的方法从植物学性状、药材显微特征、薄层色谱和 ITS（internal transcribed spacer）序列特征等方面对黄褐毛忍冬进行了专属性特征鉴定。结果表明：（1）黄褐毛忍冬花朵横切面分泌细胞较多，花瓣外表面有黄褐色腺毛；花冠表皮上层细胞为多角形，蚌形花粉囊对开，花粉粒形状规则，有三角形和卵圆形两种，油室椭圆形。（2）粉末显微检测发现中柱鞘纤维呈短棱形；木栓细胞棱角明显，呈浅黄色；木纤维呈粗短的棱形，偶见有弯曲；网纹导管较多，细胞腔密布草酸钙方晶。（3）薄层色谱显示黄褐毛忍冬花中三萘酚含量较高，三萘酚可作为黄褐毛忍冬的检视成分。（4）基于 ITS 序列系统聚类结果显示，ITS 序列可以作为 DNA 条形码将黄褐毛忍冬、灰毡毛忍冬、华南忍冬和金银花准确地区分。上述结果表明黄褐毛忍冬生药学特征明显，本研究为黄褐毛忍冬药材鉴定、成分分析和质量标准制定提供了参考。

**关键词**：黄褐毛忍冬，显微特征，薄层色谱检视，ITS 聚类分析

**中图分类号**：Q946 ; R282.71　　　　**文献标识码**：A

# Pharmacognostic identification study of *Lonicera fulvotomentosa*

JIANG Xianghui[1, 2*], XIAO Longqian[1, 2], Yang Yongping[3]

---

**基金项目**：湖南省教育厅重点资助项目（19A390）；湖南省教育厅创新平台项目（16K069）；贵州省科技厅社会发展项目（黔科合支撑[2018]2823）[Supported by Key Project Fund of Hunan Provincial Department of Education (19A390); Innovation Platform Project of Hunan Provincial Department of Education (16K069); Social Development Project of Guizhou Provincial Department of Science and Technology (Qiankehe Support [2018]2823)]。

**作者简介**：蒋向辉（1974-），博士，副教授，药用植物鉴定与成分分析研究，jxfei789@163.com。

**通信作者**

(1. *College of Biological and Food Engineering*, *Huaihua University*, Huaihua 418008, Hunan, China; 2. *Key Laboratory of Hunan Province for Study and Utilization of Ethnic Medicinal Plant Resources*, *Huaihua University*, Huaihua 418008, Hunan, China; 2. *Guizhou Oute Pharmaceutical Co*., *Ltd*., Kaili 556011, Guizhou, China)

**Abstract**: *Lonicera fulvotomentosa* has many functions including anti-inflammatory, antibacterial, immune regulation, etc., but it is easily confused with other species of *Lonicera*. The pharmacognosy research of *L. fulvotomentosa* will provide a scientific basis for its identification and the formulation of medicinal materials standards. This study combined botanical identification, microscopic observation, thin layer chromatography identification (TLC), and molecular identification to identify specific characteristics of *L. fulvotomentosa*, from these aspects of botanical traits, microscopic characteristics of medicinal materials, TLC and ITS sequence feature. The results were as follows: (1) There were many secretory cells on the cross-section of the flower, many yellow-brown glandular hairs were on the surface of the bract has, the upper layer cell of corolla epidermis was polygonal, the pollen sac was mussel-shaped, the pollen grains were triangular or oval, and the oil chamber was round or oval. (2)The results of powder microscopy showed that the middle column sheath fibers were short prisms; The cork cells were sharply angular and light yellow; The wood fibers were stubby and prismatic, a few of which were bent; There were many reticulated catheters, and the calcium oxalate square crystals were densely packed in the cell cavity. (3) TLC showed that the content of kaempferol in the flower of *L. fulvotomentosa* was higher, and kaempferol could be used as the identification component of *L. fulvotomentosa*. (4) The cluster analysis results based on ITS sequences showed that the ITS sequence could be used as the DNA barcode to distinguish *L. fulvotomentosa*, *L. macranthoides*, *L. confusa*, and *L. japonica*. This study provides a theoretical basis for the identification, component analysis, and quality standard formulation of *L. fulvotomentosa*.

**Key words**: *Lonicera fulvotomentosa*, microscopic features, TLC identification, ITS sequence

黄褐毛忍冬(*Lonicera fulvotomentosa*)为忍冬科忍冬属藤本植物，主要分布在我国云南、贵州和广西等省（国家中医药管理局中华本草编委会, 1998），其营养成分及化学组成与忍冬（*Lonicera japonica*）相似（Wu et al., 2015），黄褐毛忍冬常被作为忍冬的替代品使用，在预防和治疗流感、SARS、冠状病毒等方面有较好的疗效（He et al., 2017; Xia et al., 2019）。已有研究表明，忍冬属药用植物初开的花或花蕾中含有酚酸、类黄酮、三萜皂苷和生物碱等多

种活性成分（Shang et al., 2011），忍冬中咖啡酰奎尼酸衍生物有抗肿瘤活性和抗艾滋病病毒（HIV）活性（Mishima et al., 2005；Yang et al., 2005），Han et al.（2014）研究也认为忍冬属药用植物活性成分在人类疑难杂症与流行性疾病的治疗和预防中有极好的开发利用前景。

黄褐毛忍冬和金银花（*Lonicera japonica*）虽然同为忍冬属药植物，但化学成分差异明显，我国 2015 版药典对黄褐毛忍冬和金银花主要成分含量的标准也各不一样（中华人民共和国国家药典委员会, 2015）。我国中医习惯将黄褐毛忍冬当作金银花的替代品使用，为了避免黄褐毛忍冬和金银花混用产生不良后果，有必要建立准确的鉴定与分析方法。虽然已有学者从形态学鉴定、显微鉴定、光谱鉴定、理化鉴定和生物技术鉴定等方面进行过灰毡毛忍冬与金银花的比较研究（Zhang et al., 2019），但由于忍冬属植物的花蕾中都含有丰富的酚酸、类黄酮、三萜类皂苷等化合物（Shang et al., 2011），营养成分与化学组成都极为相似，仅从成分方面将黄褐毛忍冬与金银花分开难度较大。目前，关于黄褐毛忍冬的生药鉴定有过一些报导，但不够详尽，不方便实际鉴定工作。为了更好地对黄褐毛忍冬进行质量控制，确保其药效以及临床应用，因此有必要对黄褐毛忍冬进行全面的生药学特征鉴别研究，建立多种方法与技术联合的鉴定分析技术，为黄褐毛忍冬药材鉴定、成分分析和质量标准制定提供依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 药材

样品来自贵州省兴义则戎镇，经湖南省林业科学研究院王旭军研究员鉴定为忍冬科忍冬属植物黄褐毛忍冬(*Lonicera fulvotomentosa*)的花及花蕾。标本存放于怀化学院生物与食品工程学院标本室。

### 1.2 仪器和试剂

仪器：COSUAI 型粉碎机（湖南基德电器公司）；科隆 101 型恒温干燥箱（怀化科仪公司）；BSM 型电子天平（上海精平仪器公司）；HH-1 型恒温水浴锅（长沙科仪公司）；VILBER INFINITY 3026 凝胶成像仪（上海制承仪器公司）；YH/TDL-5000bR 冷冻离心机（四川致研科技有限公司）；101-0 电热恒温鼓风干燥箱（上海姚氏仪器设备厂）；API-258 轮转式石蜡切片机（杭州艾普设备有限公司）；XSP-201B 生物显微镜（上海谱骞光学仪器有限公司）；3PrimeX 基因扩增仪（英国 Techne 公司）。

试剂：碘，碘化钾，番红，甲醛，醋酸，苏木精染液，石蜡，甘油，PCR 试剂（TAQ 酶，dNTP），TBE 缓冲液。

## 2 方法

**2.1 性状鉴别**

观察黄褐毛忍冬的茎、叶和花形态特征及新鲜药材的颜色、形状、大小、质地、断裂等特征。

**2.2 显微鉴别**

参照薄层色谱法（《中国药典》2020 年版四部通则 0502）试验方法，采集新鲜黄褐毛忍冬的花及花蕾放于安瓿瓶，加入适量的苏木精染液，放于 40 ℃温箱中 24~36 h，冲净后用稀氨水（1%~2%）浸泡 15 min，洗净后依次用 35%、55%、75%和 95%酒精脱水，在二甲苯浸泡 4~6 min 后石蜡包埋过夜。用刀片将包埋好的样品进行修块，用酒精灯将其粘贴在小木块上，切片，明胶固定，吸水纸吸去一侧水，放于烘片机上烤干，待其干后，用生物显微镜观察，放于 40 ℃恒温箱中烘烤 10 d 以上，脱蜡，95 %酒精配制的番红染液复染，洗脱后封片再观察。

**2.3 薄层色谱鉴别**

参照薄层色谱法（《中国药典》2020 年版四部通则 0502）试验方法，分别将黄褐毛忍冬花、幼叶和幼茎粉碎，过 40 目筛，各称取粉末 1.0 g，分别加入 20 mL 50 %乙醇溶液，水浴回流加热 30 min 后，置冰水中冷却，抽滤后取滤液，滤液于蒸发皿上挥发至干燥，向残留物中加入 4 mL 甲醇，将残留物溶于甲醇备用。另以甲醇作为溶剂，制备 0.50 mg $\cdot$mL$^{-1}$ 的山柰酚对照品溶液。将上述溶液点于同一硅胶 G 薄层板，采用酸乙酯-甲酸-水（8 : 1 : 1）作为展开剂，于 25 ℃和 65%温湿度条件下展开，喷 10%的硫酸乙醇，干燥后置 365 nm 的紫外灯下检视。

**2.4 分子鉴别**

参照蒋向辉等（2010）采用改良 CTAB 法分别提取黄褐毛忍冬幼叶、老叶和花的总 DNA 提取并设计引物，引物序列 ITS~F：GGAAGGTAAAAGTCAAGG；ITS~R：TCCTCCGCTTATTGATATGC。参照蒋向辉等（2010）PCR 扩增程序进行 PCR 扩增，DNA 片段回收并克隆到 pMD 18-T 载体，挑选 6 个阳性克隆提取质粒测序，同时对 PCR 产物直接测序。从 NCBI（National Center for Biotechnology Information ）数据库下载包含完整的 ITS1（internal transcribed spacer 1）和 ITS2（internal transcribed spacer 2）的忍冬属物种 ITS 序列，采用 mega x 软件对测得序列与 NCBI 上登录的忍冬属物种 ITS 序列采用非加权组平均法（unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA）构建系统进化树。

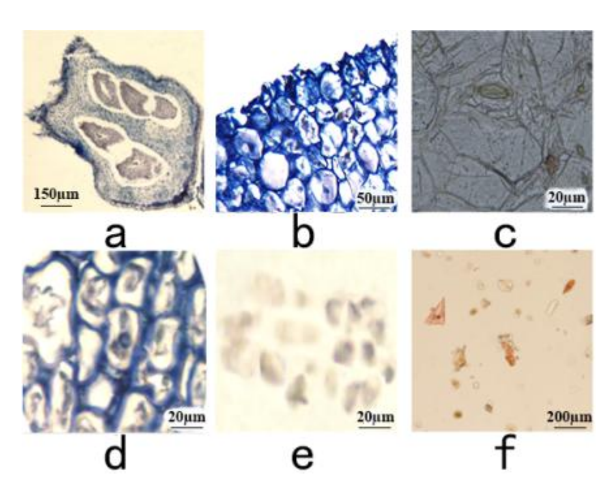
# 3 结果与分析

**3.1 性状鉴别**

黄褐毛忍冬为多年生攀援植物，茎和分枝上有黄褐色柔毛，幼枝上偶见有桔红色腺毛，幼芽鳞片通常为 4 对。不同生长时期叶形由针叶到椭圆变化，叶色由黄褐色逐渐变为绿色。成熟叶长为 4.0~7.0 cm，宽为 1.5~3.0 cm，叶柄长为 4.0~7.0 cm，叶柄密布黄褐色腺毛，较硬，叶片为狭长椭圆形，叶片上下表面均被黄褐色腺毛，叶脉网状分布，中脉处腺毛明显可见。茎顶端叶间距 1.0~1.5 cm，下部间距较宽，可达 6.0 cm。短总状花序着生于叶腋或幼枝顶部。小苞片为长钻形，长为 4.0~7.0mm，小苞片上密布硬而短的腺毛。卵状椭圆形萼筒长 1.0~3.0 mm，萼筒上无毛，萼齿较萼筒长。花朵前期白色，后期变为黄色。开放的花朵长 3.0～5.0 cm，花筒较唇瓣短，外被黄褐色短腺毛，花丝和花柱较长，雄蕊和柱头外露，表面光滑无毛。柱头为短椭圆形。节间较短，节间花束常为 10~22 束，开花较整齐。花期较短，仅 2 周左右。浆果球状黑色。

**3.2 花横切面显微鉴别**

黄褐毛忍冬花冠表皮细胞垂周壁链珠状增厚，外平周壁可见波浪状条纹。花粉囊饱满，呈长蚌状，左右对开，直径 310.0~370.0 μm。花瓣表皮细胞狭长，排列紧密，细胞壁呈长条状增厚。垂周壁中有多数草酸钙簇晶，棱角较为尖锐。花瓣薄壁细胞近圆形，直径 4.0~12.0 μm。花粉粒微黄色，呈长三角形或长卵圆形，直径为 5.0~15.0 μm。花粉粒可见有较明显的萌发孔沟。油室呈短椭圆形，切面分泌细胞较多，附近可见有黄棕色分泌物和单细胞非腺毛。详情见图 1。




**a**. 子房纵切面；**b**. 花冠内表皮；**c**. 花冠外表皮；**d**. 花丝细胞中簇晶；**e**. 花粉粒；**f**. 油室。

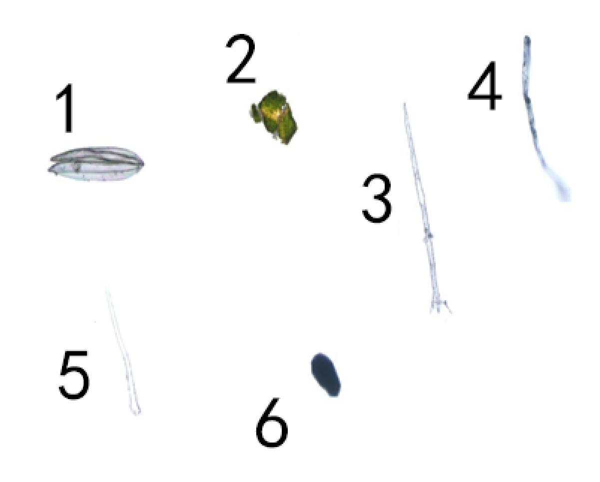
**a**. Ovary longitudinal section; **b**. Inner epidermis of the corolla; **c**. Outer epidermis of the corolla; **d**. Cluster crystal in filament cells; **e**. Pollen grains; **f**. Oil chamber.

图 1 黄褐毛忍冬显微切片图

Fig. 1 Microsection graph of *Lonicera fulvotomentosa*

### 3.3 花粉末显微特征

花粉粉碎后呈黄色，单细胞球形，偶见有淡黄绿色（图 2）。中柱鞘纤维呈短棱形，细胞直径 19.0~47.0 μm，细胞壁较薄，厚度仅为 2.0~7.0 μm。木栓细胞棱角明显，呈浅黄色，数目较多。木纤维呈粗短的棱形，偶见有弯曲，成束或散在分布，细胞直径 5.0~52.0 μm，细胞壁厚 2.0~14.0 μm，细胞壁纹孔明显，呈斜裂状。木化薄壁细胞淀粉粒复粒较多。具缘纹孔及网纹导管较较多，直径约 25.0~50.0 μm。含晶细胞壁木质化增厚较为明显，细胞腔内草酸钙方晶较多。树脂道散布有黄棕色分泌物，半透明状。




**1**. 表皮毛细胞；**2**. 色素细胞；**3**. 纤维；**4**. 腺毛；**5**. 非腺毛；**6**. 分泌细胞。

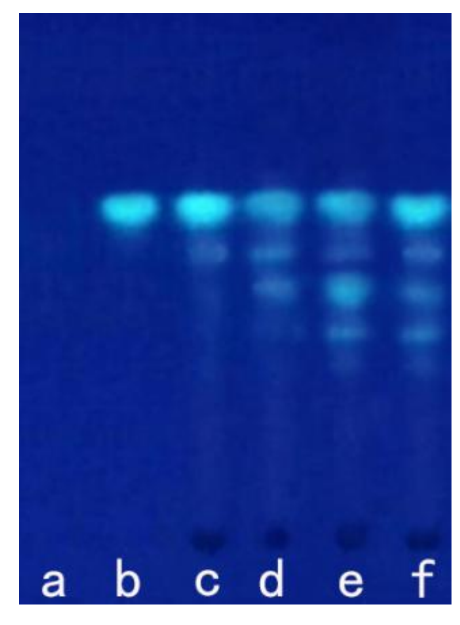
**1**. Trichomes cell; **2**. Pigment cell; **3**. Fiber cell; **4**. Glandular hair; **5**. Non-glandular hair; **6**. Secretory cell.

图 2 黄褐毛忍冬花粉末显微特征图

Fig. 2 Microscopic characteristics of the powder of *Lonicera fulvotomentosa*

### 3.4 薄层色谱鉴别

将黄褐毛忍冬、华南忍冬、金银花和灰毡毛忍冬的花提取物与三柰酚点于同一薄层 G 板上，置 365 nm 紫外灯下检视。由图 3 可知，三柰酚与忍冬属四个物种的花提取物在相同位置都发出强的浅蓝色荧光，其中金银花与灰毡毛忍冬能检视到四条谱带，华南忍冬可检视到三条谱带，而黄褐毛忍冬仅能检视到两条谱带，且黄褐毛忍冬在三柰酚处的谱带比其他三个物种更为清晰。结果表明，黄褐毛忍冬花中三柰酚含量较高，通过检视三柰酚薄层色谱谱带特征，可以将黄褐毛忍冬与华南忍冬、金银花和灰毡毛忍冬区分开。




**a**. 空白溶剂；**b**. 三柰酚对照品；**c**. 黄褐毛忍冬；**d**. 华南忍冬；**e**. 金银花；**f**. 灰毡毛忍冬。

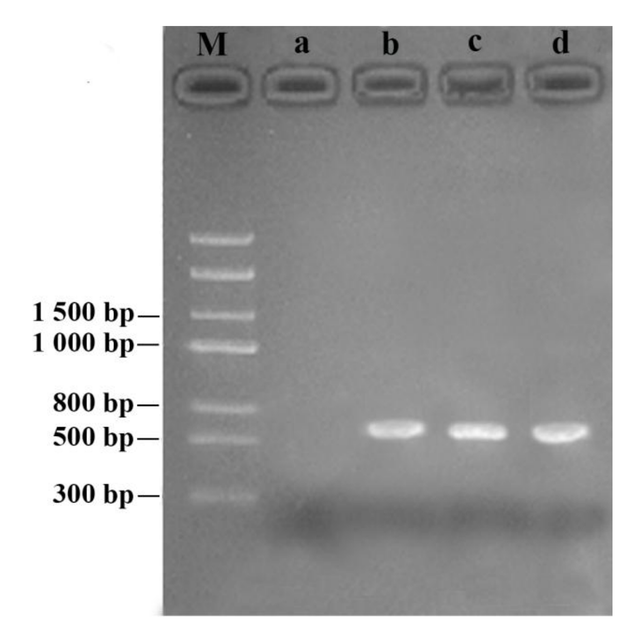
**a**. Blank solvent; **b**. Kaempferol reference substance; **c**. *L. fulvotomentosa*; **d**. *L. confusa*; **e**. *L. japonica*; **f**. *L. macranthoides*.

图 3 忍冬属四个种花提取物薄层色谱图

Fig. 3 Thin layer chromatogram detection of flower extracts from four *Lonicera* species

**3.5 分子鉴别**

由图 4 可知，分别以黄褐毛忍冬幼叶、老叶和花的基因组 DNA 为模板可得到同样大小的条带（图 4），长度为 615 bp。将测序获得的 ITS 序列拼接校验后，放入 NCBI 数据库进行 BLAST 比对确认，从 NCBI 下载包含完整 ITS1 和 ITS2，且长度在 600~620 bp 之间的忍冬属 17 份种质 ITS 序列，采用 UPGMA 法将黄褐毛忍冬与忍冬属其他 17 份种质构建系统发育树。由图 5 可知，17 个物种大致分为两大组：山银花（灰毡毛忍冬、黄褐毛忍冬、华南忍冬）和金银花可以聚为一组，这一组为忍冬属药用物种；另一组为忍冬属其他物种，两组的自展支持率均为 100%，表明以 ITS 序列为参考将 17 个物种划分两组的可信度较高。从图 5 还可以看出，黄褐毛忍冬与灰毡毛忍冬、华南忍冬亲缘关系较近，本研究为这 3 个物种同属于山银花这一大类提供了依据。同时结果表明，ITS 序列可以作为 DNA 条形码将黄褐毛忍冬与灰毡毛忍冬、华南忍冬和金银花区分开。

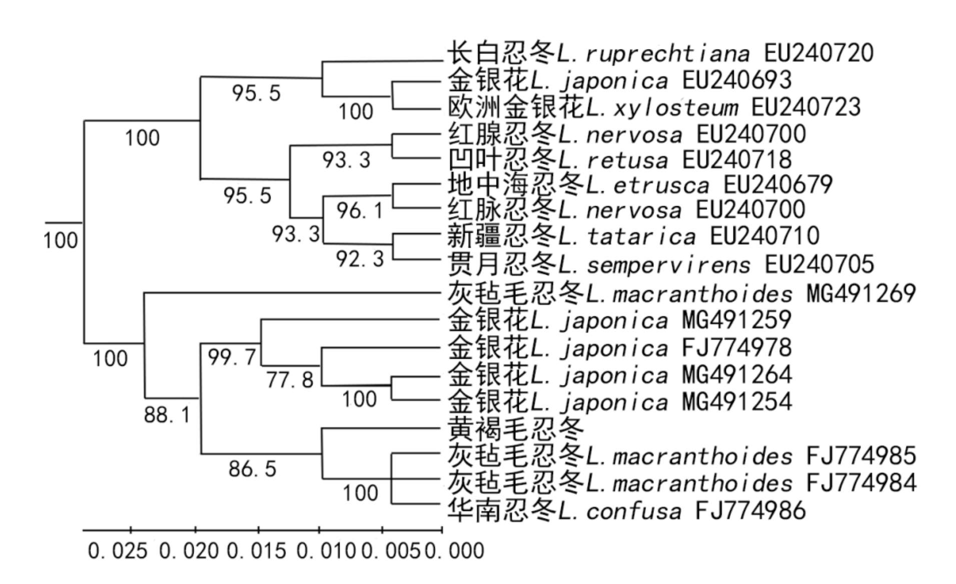



**M**. Marker；**a**. 空白对照（水）；**b**. 幼叶；**c**. 老叶；d. 花。

**M**. Marker; **a**. Control (water); **b**. Young leaf; **c**. Old leaf; **d**. Flower.

图 4 黄褐毛忍冬 ITS 扩增条带

Fig. 4 ITS amplification results of *Lonicera fulvotomentosa*




除黄褐毛忍冬外其他 17 个物种序列 ITS 序列来自 NCBI 数据库。

ITS squencess of other 17 species came from NCBI database except *Lonicera fulvotomentosa*.

图 5 黄褐毛忍冬与忍冬属其他 17 份种质 UPGMA 系统发育树

Fig. 5 UPGMA phylogenetic tree of *Lonicera fulvotomentosa* and17 species of *Lonicera*

## 4 讨论与结论

近年来，我国中医在中药材的使用过程中对特定的药用物种或品种及其化学成分的选择性并未给予太多重视，中药材被当作一种天然化学混合物使用，通常粗略地认为同属的几个

药用物种可以相互替代。然而，具有不同化学成分的同属药材可能表现出不同的药理作用，并且不同成分之间可能发生协同或拮抗作用（Sajeli et al., 2015），容易导致中药在疗效上产生较大的差异。鉴定中药材的植物来源是我国中药使用中急需关注的问题。中药材活性成分较多且影响其含量变化的因素复杂，这是影响中药材质量鉴定和评价的一大瓶颈，必须建立针对不同药材具有独特性和专一性的检测分析技术和质量标准。近年来，不断完善的薄层色谱技术已经成为天然产物化学成分鉴定与分析中一种相对便宜且易于使用的工具（Ágnes et al., 2018），特别是近年来发展起来的高效薄层层析法（HPTLC）简单快捷，能同时检测多个成分，该技术对于槲皮素和山奈酚等黄酮类成分的检测极为灵敏（Hiteksha et al., 2017）。薄层色谱技术在药材检测中推广和应用的前提是首先必须要找到每种药材独特和专一性的指标成分，对药材进行生药学研究是获得药材独特性和专一性成分的基本途径。

忍冬属药用植物在治疗外源性风热、流行性发热疾病、疮疥等传染病方面有特效（Han et al., 2014），其抗菌、抗炎、抗氧化等成分与其独特的药理活性紧密相关（Yu et al., 2019）。忍冬属植物是一个药用物种较多的种属，包括 2 亚属 4 组 14 亚组 200 种。中国药典中收载的忍冬属五种植物在花蕾形态上相似，极容易混淆，由于化学成分不尽相同，因此临床用法用量也是各有特色（Chu et al., 2011）。自 2015 版药典出版以来，山银花（灰毡毛忍冬、华南忍冬、黄褐色忍冬和红腺忍冬）被视为是金银花（忍冬）常见掺假品，而在实践中，由于我国中医或民族民间医生使用习惯与方法的差异，不同医生在治疗不同疾病的过程中使用的品种是各不相同的。采用多种技术联用对忍冬属药用植物进行全面生药学鉴定对于提高相关药材的疗效有重要的指导作用。本研究结合常规植物学性状鉴别、显微观察、薄层色谱鉴定和分子鉴别从微观到宏观对黄褐毛忍冬进行了全面的生药学鉴定。杨培等（2007）通过粉末显微检测，找到了黄褐毛忍冬花蕾薄壁和厚壁两种不同类型的非腺毛，本研究在此基础上检测到黄褐毛忍冬粉末中带有黄棕色分泌物的分泌细胞，这些分泌细胞可能与黄褐色忍冬药材颜色有关；通过薄层检测发现黔产灰毡毛忍冬和黄褐毛忍冬与绿原酸对照品在相同的位置上虽然有相同颜色的荧光斑点，但斑点数目与大小基本一致，不适合用于忍冬属不同物种的鉴别。本研究薄层色谱检测结果显示三柰酚在黄褐毛忍冬中谱带清晰，含量较高，而在华南忍冬、金银花和灰毡毛忍冬中除了三柰酚以外还可发现有两个以上其他斑点，具体成分有待鉴定。本研究认为，三柰酚可以作为黄褐毛忍冬薄层色谱检测的一个重要的指标，该化合物为有别于金银花特征性成分绿原酸与木犀草素的黄酮类化合物。

随着后基因组时代的来临，忍冬属药用物种基因组学大数据的获得更容易实现，基于分子系统学和基因组学研究有望为揭示黄褐毛忍冬这一道地药材的品质形成机制提供可能。

DNA 条形码能真实反映物种进化关系，在物种鉴别中有很大的推广应用前景（Gao et al., 2017）。我国传统中药是药材提取物或是干燥的原药材，DNA 提取较为困难，且 PCR 产物较短，扩增产物序列越短越容易扩增（Sarkinen et al., 2012）。核糖体 DNA 的 ITS2 序列长度通常为 260 bp 左右，研究表明这是一个较好的 DNA 条码区域，其具有较高的种间差异和种内保守性（Han et al., 2013）。Han et al.(2013）使用 ITS2 从忍冬属植物中鉴定金银花，但其扩展得到的 ITS2 比预期要短，并且我国中药大多是复方，涉及多种药材，仅凭一对 ITS2 通用引物对于数十种草药的鉴别效果并不理想，这对商业用途构成了很大的障碍。本研究以新鲜的黄褐毛忍冬叶和花为材料获得了 ITS 序列，其长度为 615 bp，从 NCBI 数据库获得的 ITS 序列长度，金银花为 617 bp，华南忍冬为 613 bp，灰毡毛忍冬为 613 或 610 bp，聚类分析结果显示，在忍冬属药用物种中，黄褐毛忍冬与灰毡毛忍冬、华南忍冬亲缘可归为一大类，而金银花归为另一类。研究结果表明基于 ITS 序列研究忍冬属药用植物的遗传和进化机制有助于忍冬属植物的分类与鉴别，ITS 序列可以作为 DNA 条形码将黄褐毛忍冬、灰毡毛忍冬、华南忍冬和金银花等忍冬属四个物种进行区分。

**参考文献：**

ÁGNES MM, DARIUSZ S, MAGDALENA K et al., 2018. Antibacterial potential of the *Cistus incanus* L. phenolics as studied with use of thin-layer chromatography combined with direct bioautography and in situ hydrolysis[J]. J Chromatogr A, 1534: 170-178.

Chinese Materia Medica Editorial Committee of the State Administration of Traditional Chinese Medicine, 1998. Chinese Materia Medica [M]. 7en ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 7: 6568. [国家中医药管理局中华本草编委会，1998. 中华本草 [M]. 7版. 上海：上海科学技术出版社，7：6568.]

CHU C, LIU HJ, QI LW, et al., 2011. Combination of normal light and fluorescence microscopy for authentication of five *Lonicera* species flower buds[J]. Microsc Res Techniq, 74:133-141.

GAO ZT, LIU Y, WANG XY, et al., 2017. Derivative technology of DNA barcoding (nucleotide signature and SNP double peak methods) detects adulterants and substitution in Chinese Patent Medicines[J]. Sci Rep, 7: 5858.

HAN J, LV QY, JIN SY, et al., 2014. Comparison of anti-bacterial activity of three types of di-O-caffeoylquinic acids in *Lonicera japonica* flowers based on microcalorimetry[J]. Chin J Nat Med, 12(2): 108-113.

HAN JP, ZHU YJ, CHEN XC, et al., 2013. The short ITS2 sequence serves as an efficient

taxonomic sequence tag in comparison with the full-length ITS[J]. Biomed Res Int, 741476:1-7.

HE L, QIAN J, LI XW, et al., 2017. Complete chloroplast genome of medicinal plant *Lonicera japonica*: genome rearrangement, intron gain and loss, and implications for phylogenetic studies[J]. Molecule, 22(249): 1-12.

HITEKSHA P, AESHNA A, MAMTA S, et al., 2017. Development of validated High-performance Thin-layer Chromatography method for simultaneous determination of quercetin and kaempferol in *Thespesia populnea*[J]. Pharmacogn Res, 9(3): 277-281.

JIANG XH, SHE CW, XU D, et al., 2010. Application research of ITS sequences in tomato germplasm identification [J]. Chin Agric Sci Bull, 26(5):63-67. [蒋向辉，佘朝文，许栋，等，2010. ITS 序列在西红柿种质资源鉴定中的应用[J]. 中国农学通报，26(5)：63-67.]

MISHIMA S, INOH Y, NARITA Y, et al., 2005. Identification of caffeoylquinic acid derivatives from *Brazilian propolis* as constituents involved in induction of granulocytic differentiation of HL-60 cells [J]. Bioorg Med Chem, 13 (20): 5814-5818.

National Pharmacopoeia Commission of the People’s Republic of China, 2015. Pharmacopoeia of the People’s Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 1: 31-231. [中华人民共和国国家药典委员会，2015. 中华人民共和国药典[M]. 北京：中国医药科技出版社，1：31-231.]

SAJELI BA, SENTHI M, SHAIK AB, et al., 2015. Comparative pharmacognostic evaluation and HPTLC analysis of petals of spiny and non-npiny Safflower cultivars[J]. Int J Food Prop, 18:2561-2570.

SARKINEN T, STAATS M, RICHARDSON JE, et al., 2012. How to open the treasure chest optimising DNA extraction from *Herbarium specimens*[J]. PLoS ONE, 7(8): 1-9.

SHANG XF, PAN H., LI MX, et al., 2011. *Lonicera japonica* Thunb: Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of an important traditional Chinese medicine[J]. J Ethnopharmacol, 138: 1-21.

WU C, WANG F, LIU J, et al., 2015. A comparison of volatile fractions obtained from *Lonicera macranthoides* via different extraction processes: ultrasound, microwave, Soxhlet extraction, hydrodistillation, and cold maceration[J]. Integr Med Res, 4(3): 171-177.

XIA W, YING W, WEI YT, et al., 2019. Characterization of nine compounds isolated from the acid hydrolysate of *Lonicera fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng and evaluation of their *in vitro*

activity towards HIV Protease[J]. Molecules, 24 (4526): 1-12.

YANG B, MENG ZY, DONG JX, et al., 2005. Metabolic profile of 1,5-dicaffeoylquinic acid in rats, an *in vivo*, and *in vitro* study [J]. Drug Metab Dispos, 33 (7): 930-936.

YANG P, LI J, XU B, et al., 2007. Identification and content determination of cultivated varieties of Shan Yinhua from Guizhou[J]. Chin Pharmaceut, 16(16):20-21. [杨培，李建，徐蓓，等，2007. 黔产山银花栽培品种的鉴定与含量测定[J]. 中国药业，16(16)：20-21. ]

YU M, YANG LG, XUE Q, et al., 2019. Comparison of free, esterified, and insoluble-bound phenolics and their bioactivities in three organs of *Lonicera japonica* and *L. macranthoides*[J]. Molecules, 24(970): 1-20.

ZHANG F, SHI PL, LIU HY, et al., 2019. A simple, rapid, and practical method for distinguishing *Lonicerae Japonicae* Flos from *Lonicerae* Flos[J]. Molecules, 24(3455): 1-15.